

## KERAGAMAN GENETIKA VARIAN ABACA YANG DIINDUKSI DENGAN *ETHYLMETHANE SULPHONATE* (EMS)

RULLY DYAH PURWATI<sup>1</sup>, SUDJINDRO<sup>1</sup>, ENDANG KARTINI<sup>2</sup>, SUDARSONO<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Jl. Raya Karangploso, P.O. Box 199, Malang 65152.

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Malang, Jl. Surabaya No. 6, Malang 65145.

<sup>3</sup>PMB Lab, Departemen Agronomi dan Hortikultura (AGROHORT), Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti-Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

### ABSTRAK

Mutasi *in vitro* dengan perlakuan mutagen dapat digunakan untuk meningkatkan keragaman genetika abaka melalui keragaman somaklonal. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk: (1) menentukan konsentrasi optimum EMS untuk induksi keragaman somaklonal dalam kultur kalus embriogen abaka, (2) meregenerasikan bibit abaka varian dari kalus embriogen yang diberi perlakuan EMS, dan (3) mengevaluasi tipe dan frekuensi keragaman karakter kualitatif dan kuantitatif di antara populasi tanaman mutan abaka yang diperoleh dari regenerasi kalus embriogen yang diberi perlakuan EMS. Penelitian dilakukan mulai bulan Agustus 2003 sampai Agustus 2006 di Laboratorium Kultur Jaringan dan Kebun Percobaan Karangploso, Malang pada Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang (Balittas). Hasil penelitian menunjukkan bahwa 0,6% EMS merupakan konsentrasi optimum karena pada konsentrasi tersebut diperoleh keragaman somaklonal paling banyak. Varian yang diperoleh menunjukkan karakter kualitatif dan kuantitatif abnormal. Tipe varian tersebut umumnya bersifat negatif dan kurang menguntungkan dibandingkan dengan populasi standar. Tipe dan frekuensi keragaman kualitatif dan kuantitatif pada klon Tangongon berbeda dengan klon Sangihe-1, mengindikasikan adanya pengaruh genotipe terhadap keragaman somaklonal. Varian dari abaka klon Tangongon dengan produksi serat tertinggi (161,0 g dan 154,0 g/tanaman) diperoleh dari perlakuan EMS 0,3% (T1 28.1.1 dan T1 11.2.2), sedangkan dari klon Sangihe-1, hasil serat tertinggi (35,0 g dan 40,0 g/tanaman) diperoleh dari perlakuan EMS 0,6% (S4 28.1.0 dan S4 56.2.0). Produktivitas tersebut lebih rendah dibandingkan dengan produksi serat tanaman kontrol klon Tangongon (193,0 g/tanaman) dan Sangihe-1 (70 g/tanaman).

Kata kunci : Abaka, *Musa textilis*, keragaman somaklonal, EMS, mutagenesis, *in vitro*, hasil, Jawa Timur

### ABSTRACT

#### *Genetic Variability of Abaca Variants Induced by Ethylmethane Sulphonate (EMS)*

*In vitro* mutation with mutagen treatment can be used to increase the genetic variability of abaca by inducing somaclonal variation. The objectives of the experiments were to (1) determine optimum concentration of EMS to induce abaca somaclonal variation, (2) produce abaca lines from EMS treated embryogenic calli and evaluate their performance in the field, and (3) evaluate type and frequency of qualitative and quantitative variant characters among regenerated abaca lines. This experiment was conducted in Tissue Culture Laboratory and Karangploso Experiment Station of Indonesian Tobacco and Fibre Crops Research Institute (ItoFCRI) Malang from August 2003 to August 2006. The results showed that EMS treatment on abaca embryogenic calli induced variation, and the optimum EMS concentration was 0.6%. The variants exhibited a number of abnormal qualitative and quantitative characters which were generally negative characters since they showed lower value as compared to control population. The presence of different types of qualitative and quantitative variant characters was genotype dependent. Variants from abaca clone Tangongon having the highest fibre yield (161.0 g and 154.0 g/plant) were obtained from 0.3% EMS treatment (T1 28.1.1 and T1 11.2.2

variants). While variants from abaca clone Sangihe-1 having the highest fibre yield (35.0 g and 40.0 g/plant) were obtained from 0.6% EMS treatment (S4 28.1.0 and S4 56.2.0 variants). The fibre yield of control clones, Tangongon and Sangihe-1, were 193.0 g and 70 g/plant, respectively.

Key words: Abaca, *Musa textilis*, induced mutation, somaclonal variation, field evaluation, yield, East Java

### PENDAHULUAN

Pengembangan klon unggul abaka relatif sulit dilakukan karena sempitnya keragaman genetika tanaman ini. Menurut ROUX (2004) peningkatan keragaman genetika tanaman *Musa* spp. (termasuk abaka) yaitu tanaman yang diperbanyak secara vegetatif sulit dilakukan melalui hibridisasi, karena biji hasil silangan biasanya steril (mandul). Sebagai alternatif, meningkatkan keragaman genetika tanaman abaka dapat dilakukan dengan induksi keragaman somaklonal melalui kultur *in vitro*. Induksi mutasi dalam kultur *in vitro* telah digunakan untuk meningkatkan keragaman genetika tanaman yang diperbanyak secara vegetatif seperti: apel, berbagai jenis bunga (anyelir, mawar, krisan, dan tulip), kentang, nenas, pisang, ubi jalar, dan ubi kayu (AHLUOWALIA & MALUSZYNSKI, 2001). Induksi keragaman secara *in vitro* dapat dikombinasikan dengan induksi mutasi pada eksplan, sehingga lebih besar peluang terjadinya mutasi untuk memperoleh varian dengan karakter unggul tertentu.

Mutasi gen pada tanaman umumnya dapat diinduksi dengan menggunakan radiasi sinar  $\gamma$  atau mutagen kimia. Mutagen kimia yang sering digunakan antara lain kolkisin untuk penggandaan kromosom dan asam nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), *hydroxyl-amine* ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ), *methylmethane sulphonate* (MMS) dan *ethylmethane sulphonate* (EMS) untuk menginduksi mutasi acak pada basa-basa DNA (RUSSELL, 1992). Senyawa EMS merupakan senyawa alkil yang berpotensi sebagai mutagen untuk tanaman tingkat tinggi. Dibandingkan dengan mutagen kimia lainnya, EMS paling banyak digunakan karena mudah dibeli, murah harganya dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (VAN HARTEN, 1998). Peningkatan keragaman genetika tanaman dengan induksi EMS telah berhasil dilakukan pada berbagai

spesies tanaman, seperti tembakau (GICHNER *et al.*, 2001), *Arabidopsis* (CHEN *et al.*, 2000; SAKAMOTO *et al.*, 2002), kubis bunga (MANGAL & SHARMA, 2002), pisang (ROUX, 2004), kenaf (ARUMINGTYAS & INDRIYANI, 2005), dan *Brasica napus* (SCHIERHOLT *et al.*, 2001; SPASIBIONEK 2006).

Tujuan umum penelitian adalah meningkatkan keragaman genetika abaka dengan perlakuan EMS pada kultur kalus embriogen dan mengidentifikasi fenotipe varian di antara populasi abaka yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS, yang ditumbuhkan di lapangan. Tujuan khusus penelitian adalah: (1) menentukan konsentrasi optimum EMS untuk induksi keragaman somaklonal dalam kultur kalus embriogen abaka, (2) meregenerasikan bibit abaka varian dari kalus embriogen yang diberi perlakuan EMS, dan (3) mengevaluasi tipe dan frekuensi keragaman karakter kualitatif dan kuantitatif di antara populasi tanaman mutan abaka yang diperoleh dari regenerasi kalus embriogen yang diberi perlakuan EMS.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Agustus 2003 sampai dengan Agustus 2006 di Laboratorium Kultur Jaringan dan Kebun Percobaan Karangploso, Malang pada Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang, meliputi beberapa tahap sebagai berikut:

### Induksi Varian dengan EMS dan Regenerasi Tanaman

Masing-masing sebanyak 100 potong (ukuran 3x3x3 mm<sup>3</sup>) kalus embriogen abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 drendam dalam berbagai konsentrasi larutan EMS (0%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; atau 0,6%) dan digoyang selama 2 jam dengan kecepatan 60 rpm. Setelah diproliferasi selama enam bulan dalam media induksi kalus (MK) yaitu: media MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) dengan penambahan BAP 5 mg/l, thidiazuron (TDZ) 0,4 mg/l dan vitamin C 100 mg/l. Selanjutnya kalus embriogen abaka ditumbuhkan hingga membentuk tunas dalam media induksi tunas (MT) yaitu: media MS dengan penambahan BAP 0,5 mg/l dan vitamin C 100 mg/l. Tunas abaka yang didapat ditumbuhkan dalam media perakaran (media MS dengan penambahan arang aktif 1 g/l) hingga membentuk *plantlet*.

Seluruh *plantlet* abaka varian yang telah berakar ditanam dalam pot plastik berisi pasir steril, diaklimatisasi selama satu minggu sebelum dipindahkan ke rumah kaca. Setelah aklimatisasi, bibit abaka dipindahkan ke dalam kantong plastik (*polybag*, dengan ukuran 15x15x30 cm) yang berisi media campuran tanah : pasir (2:1 b/b) sebanyak 5 kg dan dipelihara di rumah kaca hingga bibit

berumur 5 bulan. Bibit abaka sehat dan tidak menunjukkan gejala serangan hama atau penyakit dipilih dan ditanam di lapangan (dari setiap perlakuan hanya diperoleh bibit sehat maksimal 40 bibit).

### Penanaman Bibit Abaka Varian di Lapangan

Bibit abaka varian yang telah disiapkan, ditanam di lapangan dengan jarak 2 m antar baris dan 2 m dalam baris (2x2 m) dalam lubang tanam berukuran 25 x 25 x 25 cm (p x l x d). Dalam setiap lubang tanam dimasukkan pupuk kandang (kotoran sapi atau kambing) 7,5 kg pada saat 7 hari menjelang tanam.

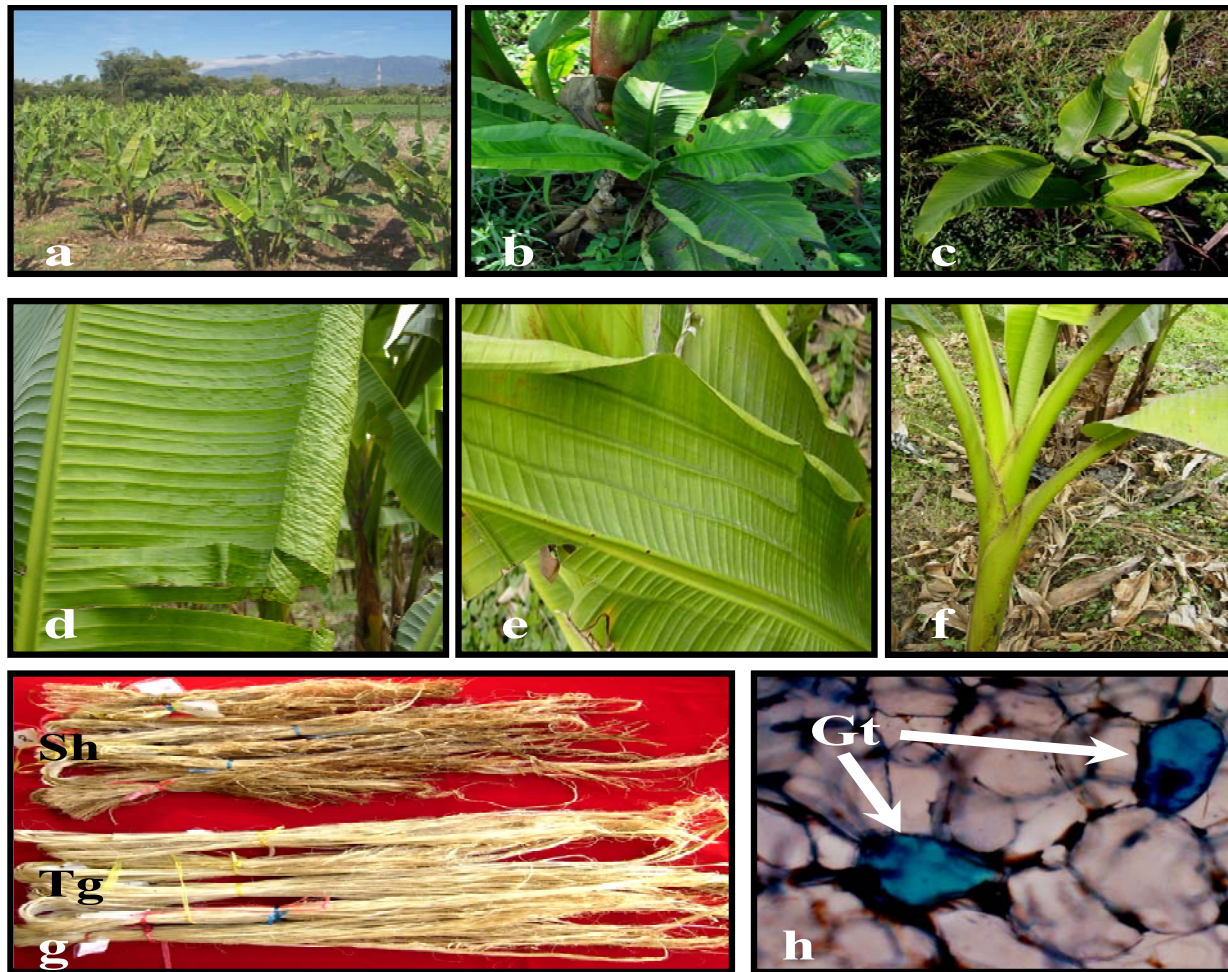
Unit percobaan terdiri atas satu tanaman dan untuk masing-masing perlakuan konsentrasi EMS ditanam 40 tanaman sehingga secara keseluruhan terdapat 400 tanaman. Dalam percobaan ini, pemeliharaan tanaman yang dilakukan disesuaikan dengan kondisi di lapangan, meliputi penyiangan gulma, penggemburan tanah, pengairan dan pembuangan daun-daun yang telah kering. Pemupukan dengan pupuk ZA 1 kg/rumpun tanaman abaka diberikan setiap 6 bulan.

### Karakter Kualitatif dan Kuantitatif Tanaman di Lapangan

Populasi tanaman abaka yang ditanam di lapangan dievaluasi berbagai karakter kualitatifnya. Populasi tanaman abaka yang diberi perlakuan EMS 0%, digunakan sebagai populasi standar. Setiap karakter kualitatif tanaman hasil perlakuan EMS, yang menyimpang dari klon abaka awal dicatat sebagai karakter varian dan dihitung frekuensinya.

Karakter kuantitatif yang diamati meliputi tinggi tanaman, lingkaran batang, panjang dan lebar daun, bobot batang semu, bobot dan jumlah pelepah, panjang dan bobot serat kering, rendemen serat dari batang dan pelepah, serta kekuatan serat. Pengamatan dilakukan pada saat panen yaitu 16 bulan setelah tanam. Untuk masing-masing peubah, nilai pengamatan dikelompokkan ke dalam 5 kelas, dan individu tanaman yang menyimpang dari sebaran nilai pengamatan dari tanaman standar (kontrol) dianggap sebagai varian.

Kualitas warna serat diduga berkorelasi dengan keberadaan tipe sel tertentu (sel getah) di dalam jaringan-nya. Pewarnaan kalus embriogen yang berkembang dalam media MT dengan pewarna biru metilen (*methylene blue*) dan diikuti dengan pengamatan jaringan menggunakan mikroskop dilakukan untuk menduga keterkaitan antara keberadaan sel getah dengan warna serat yang dipanen.



Gambar 1. (a) Populasi tanaman abaka yang ditumbuhkan di lapangan, (b) daun variegata pada tanaman induk dan anakannya, (c) Tanaman abaka varian dengan fenotipe kate (kerdil), (d) daun berkerut dan tepi daun menggulung, (e) daun berkerut, (f) duduk daun berhadapan, seperti kipas, (g) Perbedaan warna serat antara klon Sangihe-1 dan Tangongon, (h) sel getah (gt) yang diamati di antara sel-sel dari jaringan kalus embriogen abaka klon Sangihe-1 (pembesaran 20x).

Figure 1. (a) Abaca population in the field, (b) leaf variegation of plant and its sucker, (c) abaca variant with stunted phenotype, (d) shrink leaf with rolled leaf margin, (e) shrink leaf, (f) abnormal leaf position, (g) difference of fiber colour on clone Tangongon and Sangihe-1, (h) latex cell (gt) observed between cells of embryogenic calli tissues on Sangihe-1 (20x)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Karakter kualitatif tanaman di lapangan

Karakter kualitatif varian yang diamati di antara populasi abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 hasil kultur jaringan tanpa perlakuan EMS meliputi daun variegata,

daun berkerut, ujung daun mengecil, dan tanaman kerdil. Pada populasi tanaman yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS, terdapat sejumlah karakter varian tambahan yaitu tepi daun menggulung, warna daun kekuningan, dan duduk daun berhadapan seperti kipas. Tipe varian serta jumlah dan persentase tanaman varian yang diamati di antara populasi tanaman abaka di lapangan dapat dilihat pada Tabel 1. Contoh karakter kualitatif varian yang diamati di antara populasi tanaman abaka di lapangan disajikan pada Gambar 1b-f.

Tabel 1. Tipe karakter kualitatif varian dan frekuensinya di antara populasi abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan berbagai konsentrasi EMS, 16 bulan setelah tanam.  
 Table 1. Qualitative character types and frequencies of variants amongst abaca population clone Tangongon and Sangihe-1 regenerated from embryogenic calli treated with several concentrations of EMS, 16 months after planting.

Klon abaka dan karakter kualitatif varian <i>Abaca clones and qualitative character of variants</i>	Jumlah tanaman varian dan persentasenya pada perlakuan EMS: <i>Number and percentage of variants treated with EMS at concentration:</i>				
	0%	0,3%	0,4%	0,5%	0,6%
<b>Tangongon:</b>					
Daun variegata <i>Variegation leaf</i>	4 (10)		2 (5)	2 (5)	2 (5)
Daun berkerut <i>Shrunked leaf</i>	8 (20)	15 (37,5)	5 (12,8)	4 (10)	7 (17,5)
Tepi daun menggulung <i>Rolled leaf margin</i>			1 (2,6)	2 (5)	
Ujung daun mengecil <i>Narrowed leaf tip</i>			1 (2,6)	2 (5)	
Warna daun kekuningan <i>Yellowish leaf colour</i>			2 (5)		1 (2,5)
Tanaman kerdil <i>Stunted plants</i>	4 (10)	4 (10)	6 (15)	6 (15)	5 (12,5)
Posisi duduk daun berhadapan <i>Abnormal leaf position</i>				1 (2,5)	
<b>Sangihe-1:</b>					
Daun variegata <i>Variegation leaf</i>	3 (7,5)			1 (2,6)	
Daun berkerut <i>Shrunked leaf</i>	4 (10)	2 (5)			1 (2,8)
Tepi daun menggulung <i>Rolled leaf margin</i>			1 (2,5)		
Ujung daun mengecil <i>Narrowed leaf tip</i>	1 (2,5)				
Warna daun kekuningan <i>Yellowish leaf colour</i>					4 (11)
Tanaman kerdil <i>Stunted plants</i>	3 (7,5)	8 (21)	2 (5)	7 (17,9)	1 (2,8)
Posisi duduk daun berhadapan <i>Abnormal leaf position</i>				1 (2,6)	

### Karakter Kuantitatif Tanaman di Lapangan

Populasi tanaman abaka klon Tangongon yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS setelah ditanam di lapangan mempunyai rata-rata yang lebih rendah dibandingkan populasi standar (EMS 0%) untuk sebagian besar karakter kuantitatif yang diamati (Tabel 2). Tetapi untuk kekuatan serat, nilai rata-rata populasi hasil perlakuan EMS 0,4% lebih tinggi dibandingkan EMS 0%.

Berbagai karakter kuantitatif pada populasi tanaman abaka klon Sangihe-1 yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS memiliki nilai rata-rata yang bervariasi dibandingkan dengan populasi standar (Tabel 2). Populasi dengan perlakuan EMS mempunyai nilai rata-rata panjang serat, rendemen serat, dan jumlah tanaman produktif per rumpun yang lebih tinggi dibandingkan populasi standar. Populasi yang dihasilkan dari perlakuan EMS 0,5% mempunyai nilai rata-rata lebar daun, rasio p/l daun, tinggi tanaman, lingkaran batang, bobot serat, panjang serat, dan kekuatan serat yang sama atau lebih tinggi dari populasi standar (Tabel 2).

Karakter kuantitatif dari populasi abaka klon Tangongon dengan perlakuan EMS yang menyebar dengan kisaran sama dengan sebaran individu pada populasi standar adalah rasio p/l daun, jumlah anakan per rumpun, bobot serat dan pelepah per tanaman, serta rendemen serat. Sedangkan karakter kuantitatif yang menyebar di luar sebaran individu pada populasi standar adalah panjang dan lebar daun, tinggi dan lingkaran batang, jumlah pelepah dan panjang serat per tanaman, serta kekuatan serat.

Individu tanaman pada populasi abaka klon Tangongon dengan perlakuan EMS yang mempunyai nilai karakter kuantitatif di luar sebaran nilai individu pada populasi standar dikelompokkan sebagai varian, yang pada klon Tangongon merupakan varian negatif (nilainya lebih rendah dari tanaman standar). Contoh sebaran nilai individu untuk karakter panjang dan bobot serat per tanaman, bobot pelepah per tanaman, serta tinggi batang dari abaka klon Tangongon dengan atau tanpa perlakuan EMS dapat dilihat pada Gambar 2. Pada Tabel 3 disajikan karakter kuantitatif dari klon abaka klon Tangongon varian terpilih dengan bobot serat per tanaman yang tertinggi untuk masing-masing perlakuan EMS (0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0,6%) serta perlakuan standar (EMS 0%).

Karakter kuantitatif dari populasi abaka klon Sangihe-1 dengan perlakuan EMS yang menyebar dengan kisaran sama dengan sebaran individu pada populasi standar adalah panjang, lebar dan rasio p/l daun, tinggi, lingkaran dan bobot batang, jumlah anakan per rumpun, bobot pelepah per tanaman, panjang serat per tanaman, bobot serat per tanaman, serta rendemen serat. Sedangkan karakter kuantitatif yang menyebar di luar sebaran individu pada populasi standar adalah jumlah pelepah per tanaman dan kekuatan serat.

Individu tanaman pada populasi abaka klon Sangihe-1 dengan perlakuan EMS yang mempunyai nilai karakter kuantitatif di luar sebaran nilai individu pada populasi standar dan merupakan varian negatif (nilainya lebih rendah dari tanaman standar) adalah jumlah pelepah per tanaman sedangkan yang merupakan varian positif adalah kekuatan serat. Contoh sebaran nilai individu untuk

Tabel 2. Rataan karakter kuantitatif tanaman pada populasi abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan berbagai konsentrasi EMS, 16 bulan setelah tanam

Table 2. Average of quantitative characters among abaca population clone Tangongon and Sangihe-1 regenerated from embriogenic calli treated with several concentration of EMS, 16 months after planting

Karakter kuantitatif Quantitative characters	Nilai rata-rata populasi $\pm$ standar deviasi (SD) pada perlakuan EMS: Average value of population $\pm$ standard deviation (SD) on several concentration of EMS				
	0%	0,3%	0,4%	0,5%	0,6%
<b>Abaka klon Tangongon Abaca clone Tangongon</b>					
Panjang daun <i>Leaf length</i> (cm)	167,6 $\pm$ 24,8	143,2 $\pm$ 24,4	128,8 $\pm$ 18,5	110,8 $\pm$ 25,6	104,2 $\pm$ 25,7
Lebar daun <i>Leaf width</i> (cm)	53,9 $\pm$ 7,2	49,3 $\pm$ 7,5	48,0 $\pm$ 5,7	44,2 $\pm$ 8,2	40,6 $\pm$ 8,7
Ratio p:l daun <i>Leaf ratio</i>	3,1 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,2	2,6 $\pm$ 0,3
Tinggi tanaman <i>Plant height</i> (cm)	181,8 $\pm$ 29,2	152,7 $\pm$ 27,2	137,3 $\pm$ 17,4	116,0 $\pm$ 27,0	107,3 $\pm$ 27,1
Lingkar batang <i>Pseudostem circle</i> (cm)	36,4 $\pm$ 6,2	32,0 $\pm$ 5,0	29,9 $\pm$ 4,2	26,2 $\pm$ 5,9	23,7 $\pm$ 6,2
Bobot batang <i>Pseudostem weight</i> (kg)	7,2 $\pm$ 2,4	5,4 $\pm$ 2,2	4,2 $\pm$ 1,4	3,5 $\pm$ 1,3	2,5 $\pm$ 1,5
Jumlah pelepah <i>Number of leaf sheaths</i>	10,6 $\pm$ 1,6	9,2 $\pm$ 2,0	8,7 $\pm$ 1,5	7,4 $\pm$ 1,2	7,0 $\pm$ 1,9
Bobot pelepah <i>Weight of leaf sheaths</i> (kg)	5,6 $\pm$ 2,0	4,0 $\pm$ 1,8	3,1 $\pm$ 1,2	2,4 $\pm$ 0,9	1,8 $\pm$ 1,2
Bobot serat <i>Fiber weight</i> (g)	108,9 $\pm$ 46,0	74,4 $\pm$ 40,1	48,8 $\pm$ 21,4	38,0 $\pm$ 17,2	32,2 $\pm$ 20,7
Panjang serat <i>Fiber length</i> (cm)	150,8 $\pm$ 21,0	129,7 $\pm$ 22,1	119,0 $\pm$ 14,4	112,7 $\pm$ 15,6	103,6 $\pm$ 17,9
Kekuatan serat <i>Fiber strength</i> (g/tex)	37,8 $\pm$ 3,4	36,5 $\pm$ 3,9	38,5 $\pm$ 3,7	35,6 $\pm$ 2,9	34,8 $\pm$ 3,6
Rendemen serat dari batang <i>Fiber percentage from pseudostem</i> (%)	1,5 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,3
Rendemen serat dari pelepah <i>Fiber percentage from leaf sheaths</i> (%)	1,9 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,4
Tanaman produktif per rumpun <i>Productive plants per cluster</i>	5,4 $\pm$ 1,5	4,3 $\pm$ 1,8	5,1 $\pm$ 1,7	4,8 $\pm$ 1,6	4,7 $\pm$ 1,5
<b>Abaka klon Sangihe-1 Abaca clone Sangihe-1</b>					
Panjang daun <i>Leaf length</i> (cm)	98,6 $\pm$ 14,8	94,4 $\pm$ 18,6	94,3 $\pm$ 19,0	98,3 $\pm$ 17,1	83,7 $\pm$ 10,2
Lebar daun <i>Leaf width</i> (cm)	33,8 $\pm$ 3,5	33,3 $\pm$ 5,4	31,2 $\pm$ 4,2	31,2 $\pm$ 5,2	28,1 $\pm$ 3,2
Ratio p:l daun <i>Leaf ratio</i>	2,9 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,4	3,2 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,3
Tinggi tanaman <i>Plant height</i> (cm)	101,6 $\pm$ 16,2	93,4 $\pm$ 13,8	98,0 $\pm$ 19,4	102,7 $\pm$ 19,3	87,9 $\pm$ 8,8
Lingkar batang <i>Pseudostem circle</i> (cm)	21,8 $\pm$ 3,3	21,5 $\pm$ 3,7	19,8 $\pm$ 5,1	21,7 $\pm$ 4,5	17,5 $\pm$ 2,2
Bobot batang <i>Pseudostem weight</i> (kg)	1,9 $\pm$ 7,8	1,9 $\pm$ 7,9	1,7 $\pm$ 0,8	2,0 $\pm$ 1,0	1,2 $\pm$ 0,4
Jumlah pelepah <i>Number of leaf sheaths</i>	7,7 $\pm$ 0,9	6,6 $\pm$ 0,9	6,7 $\pm$ 1,2	6,2 $\pm$ 1,4	5,4 $\pm$ 1,4
Bobot pelepah <i>Weight of leaf sheaths</i> (kg)	1,5 $\pm$ 6,1	1,4 $\pm$ 6,3	1,2 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,8	0,8 $\pm$ 0,4
Bobot serat <i>Fiber weight</i> (g)	26,0 $\pm$ 15,7	27,6 $\pm$ 12,4	25,7 $\pm$ 15,1	31,6 $\pm$ 20,0	23,5 $\pm$ 8,3
Panjang serat <i>Fiber length</i> (cm)	94,6 $\pm$ 20,0	96,5 $\pm$ 14,0	99,7 $\pm$ 18,6	104,8 $\pm$ 18,5	96,6 $\pm$ 14,3
Kekuatan serat <i>Fiber strength</i> (g/tex)	33,0 $\pm$ 2,3	32,9 $\pm$ 3,7	32,7 $\pm$ 3,9	34,4 $\pm$ 3,4	32,3 $\pm$ 3,2
Rendemen serat dari batang <i>Fiber percentage from pseudostem</i> (%)	1,3 $\pm$ 0,4	1,7 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,3
Rendemen serat dari pelepah <i>Fiber percentage from leaf sheaths</i> (%)	1,7 $\pm$ 0,6	1,8 $\pm$ 0,8	2,0 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,6
Tanaman produktif per rumpun <i>Productive plants per cluster</i>	5,4 $\pm$ 1,8	4,3 $\pm$ 1,2	6,4 $\pm$ 1,7	6,1 $\pm$ 2,6	5,9 $\pm$ 2,0

karakter bobot dan kekuatan serat per tanaman, jumlah pelepah per tanaman, serta tinggi batang dari abaka klon Sangihe-1 dengan atau tanpa perlakuan EMS dapat dilihat pada Gambar 3. Pada Tabel 3 disajikan karakter kuantitatif dari klon abaka klon Sangihe-1 varian terpilih dengan bobot serat per tanaman yang tertinggi untuk masing-masing perlakuan EMS (0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0,6%) serta perlakuan standar (EMS 0%).

Hasil pengamatan karakter kualitatif dan kuantitatif menunjukkan bahwa tanaman abaka varian banyak terdapat pada populasi yang diregenerasikan dari kalus embriogen yang diberi perlakuan EMS 0,4-0,6% (Tabel 1, Gambar 2-3).

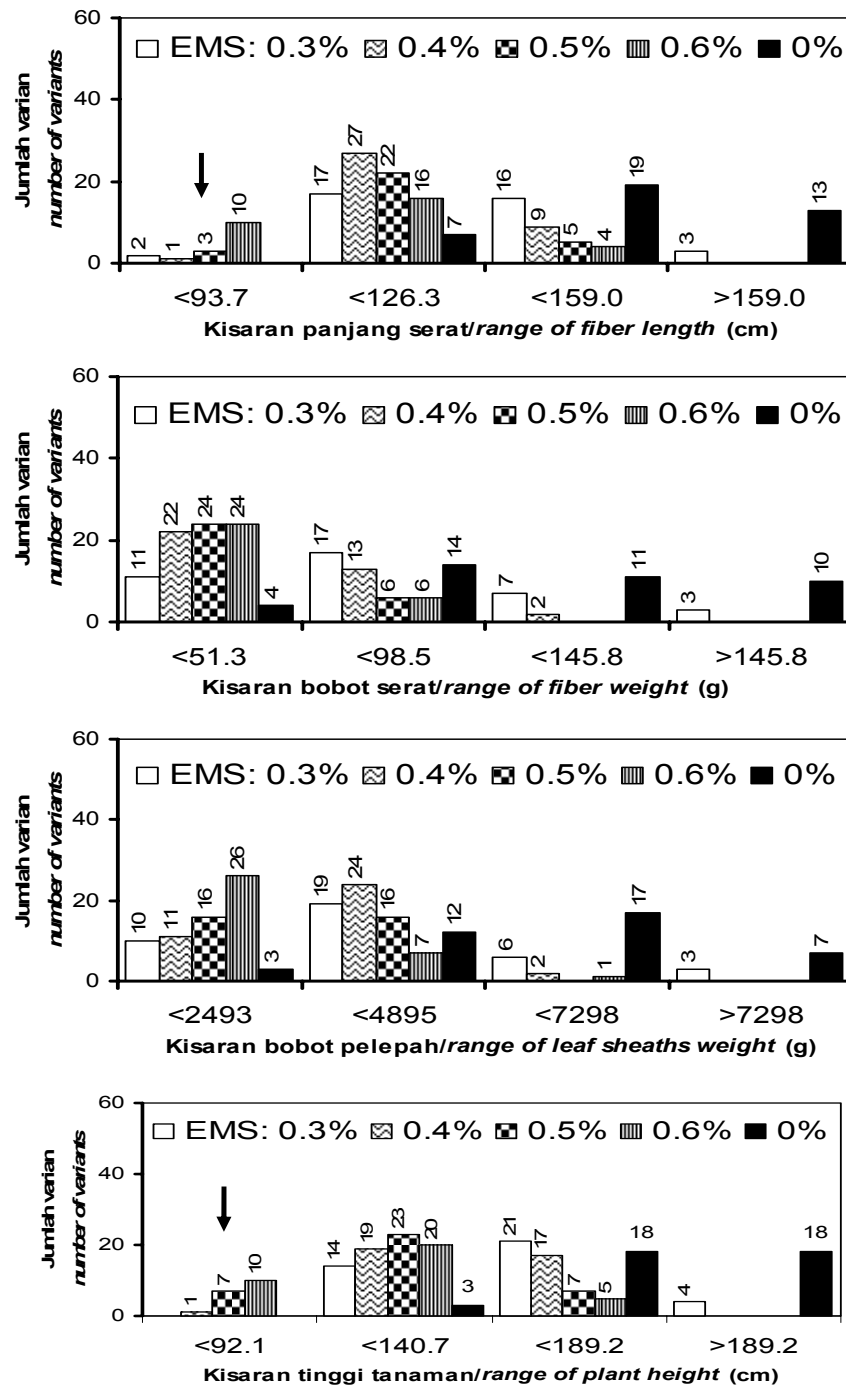
Populasi bibit abaka yang diperoleh dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS secara umum mempunyai warna serat yang berbeda (Gambar 1g) antara klon Tangongon (warna serat putih) dan Sangihe-1 (warna serat lebih gelap). Pengamatan jaringan kalus pada klon Sangihe-1 menunjukkan adanya sel getah yang menyerap pewarna biru metilen (Gambar 1h) sedangkan sel getah pada klon Tangongon sangat sedikit sehingga tidak dapat menyerap pewarna biru metilen. Adanya sel getah diduga berkorelasi

dengan warna serat abaka yang dihasilkan oleh kedua klon tersebut.

## Pembahasan

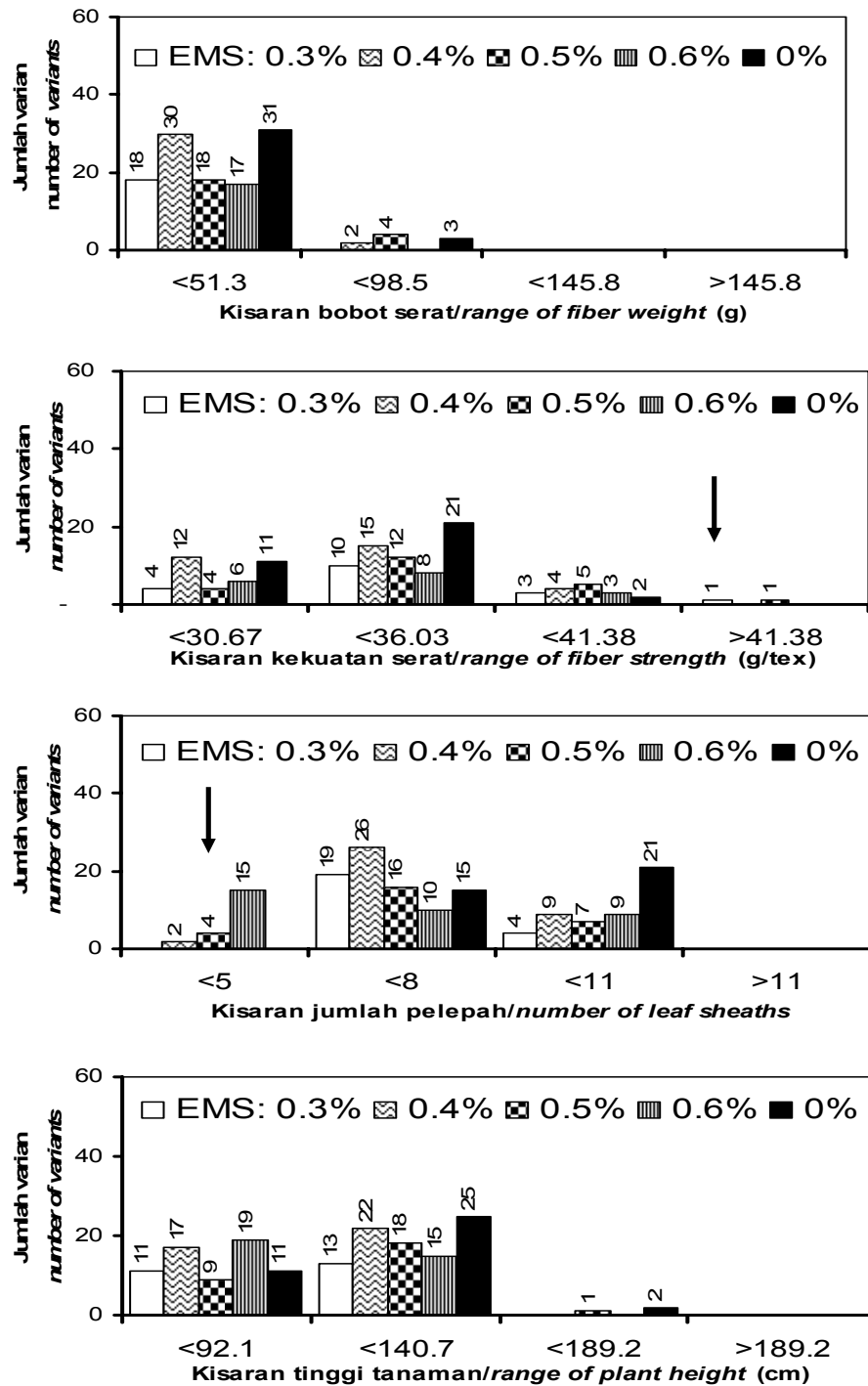
Perlakuan EMS pada kalus embriogen abaka menyebabkan munculnya varian untuk sifat kualitatif tanaman, yang meliputi morfologi daun dan pertumbuhan tanaman yang abnormal. Selain itu, perlakuan EMS juga menurunkan berbagai sifat kuantitatif dari tanaman abaka varian yang diuji di lapangan. Peningkatan konsentrasi EMS yang diberikan cenderung menghasilkan tanaman varian dengan sifat kuantitatif yang semakin menurun dibandingkan dengan populasi standar.

Penurunan sifat kuantitatif tanaman diduga disebabkan oleh mutasi acak (*random mutation*) yang terjadi akibat perlakuan mutagen (GICHNER, 2003), seperti EMS yang digunakan dalam penelitian. Meskipun tidak bersifat letal, mutasi yang terjadi dapat menon-aktifkan sejumlah gen yang mengendalikan sifat kualitatif maupun kuantitatif di dalam genom sel tanaman varian (AHLOOWALIA, 1986).



Gambar 2. Sebaran nilai dan jumlah varian berdasarkan peubah panjang serat, bobot serat, bobot pelepah, dan tinggi tanaman di lapangan di antara populasi abaka klon Tangongon varian yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS 0%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0,6%. Tanda panah menunjukkan tanaman varian untuk fenotipe panjang serat dan tinggi tanaman. Varian adalah kelompok individu tanaman yang memiliki kisaran nilai di luar sebaran nilai individu populasi standar (EMS 0%) atau dalam kelompok tersebut tidak terdapat individu dari populasi standar

Figure 2. Distribution of variant values and numbers based on fiber length, fiber weight, leaf sheaths weight, and plant height in the field between variants of clone Tangongon regenerated from embriogenic calli treated with EMS (0%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; and 0,6%). Arrow indicates variant plant of fiber length and plant height phenotypes (characters). Variants are groups of individuals having a range value outside the standard population (EMS 0%) or there are no individuals of standard population included



Gambar 3. Sebaran nilai dan jumlah varian berdasarkan peubah bobot dan kekuatan serat, jumlah pelepah per tanaman serta tinggi tanaman di lapangan di antara populasi tanaman abaka klon Sangihe-1 varian yang diregenerasikan dari kalus embriogen dengan perlakuan EMS 0%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0,6%. Tanda panah menunjukkan bibit varian untuk fenotipe kekuatan serat dan jumlah pelepah per tanaman. Varian adalah kelompok individu tanaman yang memiliki kisaran nilai di luar sebaran nilai individu populasi standar (EMS 0%) atau dalam kelompok tersebut tidak terdapat individu dari populasi standar

Figure 3. Distribution of variant values and numbers based on fiber weight and strength, numbers of leaf sheaths per plant, and plant height in the field between variants of clone Sangihe-1 regenerated from embriogenic calli treated with EMS (0%; 0.3%; 0.4%; 0.5%; and 0.6%). Arrow indicates variant plant of fiber strength and number of leaf sheaths per plant characters. Variants are groups of individuals having a range value outside the standard population (EMS 0%) or there are no individuals of standard population included

Secara umum, karakter kualitatif dan kuantitatif varian yang diamati diantara populasi tanaman abaka hasil perlakuan EMS tidak menguntungkan, antara lain: daun variegata dan berbagai kelainan morfologi daun. Daun variegata merupakan karakter varian yang paling banyak dijumpai dalam penelitian ini. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan varian daun variegata terjadi karena mutasi gen tunggal dalam genom inti yang menyebabkan kelainan pada kloroplas, seperti degradasi protein tilakoid atau rusaknya plastida (CHEN *et al.*, 2000; SAKAMOTO *et al.*, 2002).

Tinggi dan bobot batang semu merupakan karakteristik penting yang terkait dengan produksi serat per tanaman karena serat abaka diperoleh dari batang semunya. Tanaman varian yang mempunyai tinggi tanaman dan bobot batang semu lebih tinggi dari populasi standar tidak berhasil diperoleh.

Sejumlah varian dari klon Sangihe-1 hasil perlakuan EMS diketahui mempunyai kekuatan serat yang lebih tinggi dibandingkan populasi standar (>41,38 g/tex). Tanaman abaka varian tersebut adalah: S1 38.7.0, S2 89.2.2, dan S3 64.1.1. Tetapi meskipun mempunyai kekuatan serat yang lebih baik, daya hasil serat masing-masing varian tersebut hanya 25 g, 20 g, dan 34 g/tanaman.

Secara umum, warna serat abaka yang dihasilkan dari abaka klon Tangongon berbeda dengan Sangihe-1. Warna serat klon Sangihe-1 cenderung lebih gelap (coklat) dibandingkan dengan klon Tangongon (putih). Perbedaan warna serat yang diamati diduga berhubungan dengan keberadaan sel getah di dalam jaringan tanamannya. Menurut FAHN (1990), sel getah pada tanaman *Musa* sp. mengandung tanin yang mudah mengalami oksidasi sehingga menimbulkan warna coklat.

Tipe varian kualitatif dan kuantitatif di antara populasi tanaman abaka klon Tangongon dengan perlakuan EMS umumnya lebih banyak dibandingkan dengan klon Sangihe-1, yang mengilustrasikan adanya pengaruh genetika tanaman terhadap keberadaan varian. Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan, variasi somaklonal pada tanaman pisang dipengaruhi oleh kultivar yang digunakan, umur kultur dan frekuensi sub-kultur yang dilakukan (STROSSE *et al.*, 2004).

## KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan perlakuan EMS pada kalus embriogen abaka klon Tangongon dan Sangihe-1 berhasil menginduksi keragaman genetika. Keberhasilan menginduksi varian di antara populasi yang diuji juga ditunjukkan dengan adanya sejumlah karakter kualitatif yang abnormal. Untuk karakter kuantitatif, kebanyakan varian yang didapat bersifat negatif, sehingga nilai karakter kuantitatif yang diamati pada individu varian

lebih rendah dibandingkan populasi standar (EMS 0%). Konsentrasi EMS yang banyak menghasilkan keragaman somaklonal adalah 0,6%. Namun demikian, varian dengan hasil serat per tanaman tertinggi untuk klon Tangongon diperoleh dari perlakuan EMS 0,3% yaitu klon T1 28.1.1 dan T1 11.2.2 dengan hasil serat per tanaman masing-masing 161 g dan 154 g/tanaman, sedangkan untuk klon Sangihe-1 dari perlakuan EMS 0,6%, yaitu klon S4 28.1.0 dan S4 56.2.0 dengan hasil serat per tanaman masing-masing 35 g dan 40 g/tanaman. Klon Tangongon dan Sangihe-1 standar yang tertinggi hasil seratnya masing-masing 193 g dan 70 g/tanaman.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Naskah ini merupakan pengembangan bagian dari disertasi penulis. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Badan Litbang Pertanian, Puslitbangun dan Balittas serta Pimpro PAATP atas bantuan dan kesempatan menempuh program S3 di IPB serta fasilitas penelitian yang disediakan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada ibu Dr. Ika Mariska (BB Biogen) atas pemberian kultur kalus embriogen abaka klon Tangongon.

## DAFTAR PUSTAKA

- AHLOOWALIA, B.S. 1986. Limitation to the use of somaclonal variation in crop improvement. Di dalam: Semal J (ed). Somaclonal Variation and Crop Improvement. New York: Martinus Nijhoff Pub. p.14-27.
- AHLOOWALIA, B.S. and M. MALUSZYNSKI. 2001. Induced mutation - A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* .118: 167-173.
- ARUMINGTYAS, E.L. dan S. INDRIYANI. 2005. Induksi variabilitas genetika percabangan tanaman kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dengan mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS). *Natural J.* 8:24-28.
- CHEN, M., Y. CHOI, D.F. VOYTAS, and S. RODERMEL. 2000. Mutations in the Arabidopsis *VAR2* locus cause leaf variegation due to the loss of chloroplast FtsH protease. *Plant J.* 22:303-313.
- FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy* (Fourth edition). Pergamon Press. Oxford. 588p.
- GICHNER, T., D.A. STAVEVRA, and F. VAN BREUSEGEM. 2001. *O-phenylene diamine*-induce DNA damage and mutagenicity in tobacco seedlings is light-dependent. *Mutation Res.* 495:117-125.
- GICHNER, T. 2003. Differential genotoxicity of ethyl methanesulphonate, N-ethyl-N-nitrosourea and maleic hydrazide in tobacco seedlings based on data



- of the Comet assay and two recombination assay. *Mutation Res.* 538:171-179.
- MANGAL, M. and D.R. SHARMA. 2002. *In vitro* mutagenesis and cell selection for the induction of black rot resistance in cauliflower. *J. Hort Sci Biotech.* 77: 268-272.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology.* 15:473-497.
- ROUX, N.S. 2004. Mutation induction in Musa – a review. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations*. Enfield: Sci Pub, Inc. p.21-29.
- RUSSELL, P.J. 1992. *Genetics* (Third edition). HarperCollins Pub. New York. 758p.
- SAKAMOTO, W., T. TAMURA, Y. HANBA-TOMITA, SODMERGEN, and M. MURATA. 2002. The VAR1 locus of *Arabidopsis* encodes a chloroplastic FtsH and its responsible for leaf variegation in mutant alleles. *Genes to Cell.* 7:769-780.
- SCHIERHOLT, A., B. RUCKER, and H.C. BECKER. 2001. Inheritance of high oleic acid mutations in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Crop Sci.* 41:1444-1449.
- SPASIBONEK, S. 2006. New mutants of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) with changed fatty acid composition. *Plant Breeding.* 125:259-267.
- STROSSE, H., I. VAN DEN HOUWE, and B. PANIS. 2004. Banana cell and tissue culture – a review. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations*. Enfield: Sci Pub, Inc. p. 1-10.
- VAN HARTEN, A.M. 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical Application*. Cambridge: Cambridge Univ Pr. p.111-203.